

COMPOSITIONS NORMALIZING CIRCADIAN RHYTHM

Publication number: WO0187291 (A1)

Publication date: 2001-11-22

Inventor(s): KISO YOSHINOBU [JP]; ONO YOSHIKO [JP]; NAGAI KATSUYA [JP] +

Applicant(s): SUNTORY LTD [JP]; KISO YOSHINOBU [JP]; ONO YOSHIKO [JP]; NAGAI KATSUYA [JP] +

Classification:


- **International:** A61K31/122; A61P25/00; A61P25/20; A61K31/122; A61P25/00; (IPC1-7): A61K31/122; A61P25/00; A61P25/20


- **European:** A61K31/122


Application number: WO2001JP04027 20010515


Priority number(s): JP20000143039 20000516


Also published as:

 EP1283038 (A1)

 EP1283038 (B1)

 US2003091614 (A1)


 US7001611 (B2)


 PT1283038 (E)


more >>


Cited documents:

 JP2049091 (A)

 JP10155459 (A)

 JP6124958 (A)

 EP0770385 (A1)

 JP7300421 (A)

Abstract of WO 0187291 (A1)

Compositions normalizing circadian rhythm which contain as the active ingredient astaxanthin and/or its ester; and compositions having an effect of potentiating the effect of normalizing circadian rhythm of melatonin by protecting melatonin. These compositions are available in the form of drugs, functional foods, foods or drinks. These compositions exert an effect of normalizing circadian rhythm and thus preventing or ameliorating sleep disturbance and various diseases caused by circadian rhythm disorder.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年11月22日 (22.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/87291 A1

(51) 国際特許分類: A61K 31/122, A61P 25/20, 25/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/04027

(22) 国際出願日: 2001年5月15日 (15.05.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-143039 2000年5月16日 (16.05.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サントリー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-8203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka (JP).

Yoshinobu) [JP/JP]; 〒567-0872 大阪府茨木市新中条町8-41 Osaka (JP). 小野佳子 (ONO, Yoshiko) [JP/JP]; 〒533-0022 大阪府大阪市東淀川区菅原1-13-18-802 Osaka (JP). 永井克也 (NAGAI, Katsuya) [JP/JP]; 〒562-0044 大阪府箕面市半町2-21-22 Osaka (JP).

(74) 代理人: 社本一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AU, CA, JP, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 木曾良信 (KISO,

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: COMPOSITIONS NORMALIZING CIRCADIAN RHYTHM

(54) 発明の名称: 日内リズム正常化組成物

(57) Abstract: Compositions normalizing circadian rhythm which contain as the active ingredient astaxanthin and/or its ester; and compositions having an effect of potentiating the effect of normalizing circadian rhythm of melatonin by protecting melatonin. These compositions are available in the form of drugs, functional foods, foods or drinks. These compositions exert an effect of normalizing circadian rhythm and thus preventing or ameliorating sleep disturbance and various diseases caused by circadian rhythm disorder.

(57) 要約:

アスタキサンチンおよび/又はそのエステルを有効成分とする日内リズム正常化組成物、及びメラトニンの保護によるメラトニンの日内リズム正常化作用を増強する作用を有する組成物を提供する。この組成物は医薬、機能性食品、飲食品の形態であることができる。

この組成物は日内リズム正常化作用を有し、日内リズムの乱れに起因する睡眠障害及び種々の疾患を予防または改善する作用を有する。

明 細 書

日内リズム正常化組成物

〔技術分野〕

本発明はアスタキサンチンおよび／又はそのエステルを有効成分とする日内リズム正常化組成物、ならびにメラトニンの睡眠作用を増強するために、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルをメラトニンに配合あるいは併用させる組成物に関する。また、すでに生体内にあるメラトニンの睡眠作用を増強するために、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルを添加してなる組成物に関する。

〔背景技術〕

地球上の生物は体内時計と呼ばれる、地球の自転に伴って起こる昼夜、つまり明暗周期などの24時間の環境周期に同調する日内リズムを持ち、脳の視床下部視交叉上核によって制御されている。そして、我々はこの体内時計に由来した睡眠－覚醒や節食行動の日内リズムを持つ。

日内リズムは睡眠や食事のみならず、体温、血圧、心拍、内分泌の多くに見られ、心・血管系の病気の治療・予防において自律神経系、内分泌系、血行動態等の日内リズムを理解し正常に保つことが重要であるとされている。交代勤務、長距離のジェット飛行、高齢化社会、生活様式の多様化などによる人為的で不規則な生活が恒常化しつつある現代社会にあって、日内リズム睡眠障害をはじめとする生体リズム障害に起因した種々の疾患が急速に増加しており、その有効な治療対策が急がれている。日内リズムの乱れによる非同期症候群（時差ぼけ）では、夜に不眠に陥り、昼に睡魔に襲われるばかりでなく、頭痛、耳鳴り、心悸亢進、悪心、腹痛、下痢に悩まされ、判断力・集中力低下の症状が現れる。また睡眠相後退症候群（DSPS）は思春期での発病率が最も高く（Diagnostic Classification Steering Committee, Thorpy M. J.: International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual. American Sleep Disorders Association, Rochester, 1990）、こうした若年者での日内リズム睡眠障害は社会適応を困難にし、患者の有する能

力の発揮を阻害する(Kajimura et. al.: 日本臨床, Vol. 56, No. 2, p. 404, 1998)。

このような症状をもたらす日内リズムの乱れを調節する方法として、精神療法的アプローチ、非薬物療法、薬物療法がある。非薬物療法には高照度光照射があり、現在では、季節性感情障害や日内リズム睡眠障害の治療に積極的に用いられている。また、薬物療法には、ビタミンB₁₂、ベンゾジアゼピン系睡眠薬などが利用されているが、いずれも確実に効果をもたらすとは言い難く、薬物療法の確立が待たれている。ベンゾジアゼピン系睡眠薬はこれまで主流であったバルビツール系あるいは非バルビツール系睡眠薬と比較して、耐性・依存性が生じにくく比較的安全性が高いものの、筋弛緩作用・持ち越し効果・健忘作用などの副作用が発現することが知られており、その使用には十分な注意が必要である。つまり、安全で有効な日内リズム正常化作用を持つ優れた化合物がないのが現状である。

日内リズム調節を行う際の新たな化合物としてメラトニンが期待されている。メラトニンは主に松果体で産生されるホルモンで、その産生は著明な日内変動を示す。夜間の産生量は日中の50-100倍にも達する。

夜間のメラトニン分泌をβ-ブロッカー投与により抑制すると、夜間の中途覚醒の増加などの睡眠の低質化(Brismar et. al.: Acta. Med. Scand., 223, p.525, 1988)および日中の覚醒水準の低下(Dimenas et. al.: J. Clin. Pharmacol., 30, s103, 1990)など睡眠・覚醒リズム障害が生じる。老年者の睡眠障害の背景にはメラトニン分泌の減少があり、メラトニン補充療法が有効(Garfinkel et. al.: Lancet, 346, p.541, 1995)とされている。また、メラトニンの生理的分泌が低下する高齢者でも、良眠できる高齢者にはメラトニンの分泌量が多い(Haimov et. al.: Sleep, 18, p.598, 1995)。このような事実から内因性メラトニンは睡眠・覚醒リズムの調節に関与する生理的な催眠物質であるとされている。

これに対し、外因性メラトニンの催眠作用については、多様な結果が報

告されている。メラトニンの投与により入眠潜時の短縮、中途覚醒の減少、不眠の改善等の睡眠良質化がみとめられたとする報告 (Zhdanova et. al.: Clin. Pharmacol. Ther., 57, p.552, 1995) がある一方で、睡眠調節効果、睡眠障害改善効果を否定する報告 (James et. al. Neuropsychopharmacology, 3, p.19, 1990) もある。

これら相対する結果が得られた理由の一つに、投与時刻依存性が指摘されている (Mishima: 日本臨床, Vol.56, No.2, p.302, 1998)。この他、メラトニンが酸化され易いことも理由として考えられる。生体内メラトニンは、スーパーオキシドアニオンの存在下で、インドールアミン 2, 3-ジオキシゲナーゼによるインドール環の酸化的環開裂反応により代謝され失活する (Hayaishi: J. Biochem., 79, p.13, 1976) ことが知られている。従って、スーパーオキシドアニオンの発生要因となる活性酸素やラジカル濃度が高いとされる高齢者あるいはストレス負荷時には、この反応が進行しやすく、結果的にメラトニンの濃度が下がり、睡眠調節が困難になると考えられる。

このようにメラトニンは日内リズム調節に関する因子であることは明らかであるが、その治療効果を十分に発揮させるには解決すべき点が多い。よって、別の天然物化合物に日内リズム正常化作用を見出すことができれば、睡眠障害やこれに起因する種々の疾患の予防的にその利用価値はきわめて高い。また、生体内メラトニンおよび外因性メラトニンの生体内利用効率を安全かつ有効に引き上げることのできる化合物が天然物から得られれば、その利用価値もきわめて高い。

アスタキサンチンは甲殻類や魚類など水棲動物や微生物などにみられる赤色のカロテノイド色素である。アスタキサンチンは魚類の体色改善剤や家畜の色調改善添加剤として (特開昭 57-206842、特開昭 60-54647、特開平 4-63552) 利用されてきた。また、アスタキサンチンの抗酸化作用は α -トコフェロール以上に強力であることが明らかとなり、天然着色料としての用途に加え、酸化防止剤、健康食品、化粧品、医薬品への利用が期待されている (山下栄治: 食品と開発, vol.27, No.3, p.38, 1992)。

最近では、アスタキサンチンが⁶⁰Coの照射による脳内での過酸化脂質の上昇を α -トコフェロールの1/100の用量で抑制できる(Nishigaki et. al.: J. Clin. Biochem. Nutr., 16, p.161, 1994)ことが報告されている。

- しかしながら、アスタキサンチンが日内リズムの正常化作用、および日
5 内リズムの乱れにより生じる睡眠障害やそれに起因する種々の疾患の予防又は改善に有効である事は知られてない。また、アスタキサンチンがメラトニンの日内リズム調節作用を増強させることも知られていない。さらに、アスタキサンチンを日内リズムの正常化および睡眠作用を目的として飲食品および食品添加物、あるいは医薬品の有用成分として用い
10 ることは従来知られていない。

[発明の開示]

- 本発明が解決しようとする課題は、安全性が高く、かつ日内リズムを効果的に調節し、睡眠障害や日内リズムの乱れによる種々の疾患などの医学的症候等を予防または改善することを目的とする組成物およびこれを
15 を添加してなる飲食物・医薬品を提供することである。

また、メラトニンの生体内での利用率を高め日内リズムを効果的に調節する作用を有する組成物、およびこれを添加してなる飲食物・医薬品を提供することにある。

- 本発明者らは、日内リズムの正常化作用を有する物質を探索する目的で、
20 12時間明期－12時間暗期に制御された環境下でラットの自発運動量を指標とした日内リズム計測法を用い、様々な物質に関し研究を行った。その結果、カロテノイドの一種であるアスタキサンチンおよび／又はそのエステルが、日内リズム正常化作用を有することを明らかにした。さらに、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルとメラトニンを併
25 用して摂取することにより、メラトニンの日内リズム正常化作用を増強できることを見出し、本発明を完成した。

本発明は、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルを有効成分として含有するか、またはメラトニンとアスタキサンチンおよび／又はそのエステルとを併用摂取できるように含有する医薬品又は食品等の組成物

を提供する。これら組成物は、安全性が高く、かつ日内リズム正常化作用を示すものである。

[図面の簡単な説明]

5 図1はアスタキサンチンの総運動量（経日変化）に及ぼす影響を示す図である。

図2はアスタキサンチンの総運動量に対する明期の運動比率（経日変化）に及ぼす影響を示す図である。

図3はアスタキサンチンの総運動量に対する明期の運動比率（平均）に及ぼす影響を示す図である。

10 図4はアスタキサンチンとメラトニンの総運動量（平均）に及ぼす影響を示す図である。

図5はアスタキサンチンとメラトニンの明期の運動比率（平均値）に及ぼす影響を示す図である。

15 図6はメラトニンの日内リズム正常化作用に対する低用量 α -ートコフェロールの効果を示す図である。

図7はメラトニンの日内リズム正常化作用に対する高用量 α -ートコフェロールの効果を示す図である。

図8はメラトニンの日内リズム正常化作用に対するアスタキサンチンの効果を示す図である。

20 図9は明期の運動比率（平均値）に及ぼすアスタキサンチンの効果（用量依存性）を示す図である。

図10は総運動量（平均値）に及ぼすアスタキサンチンの効果（用量依存性）を示す図である。

[発明の実施の形態]

25 本発明は制御された環境下で飼育したラットの自発運動量を指標とした日内リズム計測法を用い、日内リズム正常化作用を有する物質を探索し得たものである。その結果、カロテノイドの一種であるアスタキサンチンおよび／又はそのエステルが、日内リズム正常化作用を有することを見出した。つまり、日内リズムが乱されたラットにアスタキサンチン

を摂取させることでラットの日内リズムを正常値に近づけることができた。

- さらに、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルとメラトニンとを同時に摂取させることにより、メラトニンの日内リズム正常化作用を
- 5 増強できることを見出した。そして、この増強作用はアスタキサンチンと同じ抗酸化剤である α -トコフェロールでは見られなかった。アスタキサンチンのこの作用は、メラトニンが酸化分解を受けやすい化合物であることから、アスタキサンチンの抗酸化作用に由来するものと考えられた。つまり、メラトニンの日内リズム正常化作用を増強する効果は抗
- 10 酸化物質に共通の作用であることが推察された。そこでアスタキサンチンの代わりに、アスタキサンチンと同様の抗酸化剤である α -トコフェロールを用いてその効果を比較した（実施例3）。その結果、0.001%および0.005%の α -トコフェロールではメラトニンの日内リズム正常化作用を増強する効果を示さなかった。これに対して、0.0045%のアスタ
- 15 キサンチンはメラトニンの日内リズム正常化作用を有意に増強することを見出した。このことはアスタキサンチンの作用として従来知られていなかったことである。

- 本発明のアスタキサンチンおよび／又はそのエステルは、種々の形態をとることができ、一般食品、健康食品、機能性食品、栄養補助食品など
- 20 の食品または医薬品として提供できる。また、メラトニンと併用する場合のメラトニンの使用量は、そのメラトニンの有する機能を発現するために必要な量に応じて適宜増減すれば良いが、本発明の組成物ではその生体内でのメラトニンの利用率が改善されているために、これまで必要とされてきた投与量の50-80%程度の投与量で良い。

- 25 本発明の有効成分であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは、甲殻類の甲殻及び卵（Kuhn et. al.: Angew. Chem., 51, p. 465, 1938 又は Ber., 71, p. 1879, 1938）、臓器（Kuhn et. al.: Ber. 72, p. 1879, 1939）、植物（Tischer et. al.: Z. Physiol. Chem., 267, p. 281, 1941）、福寿草や金鳳花の花弁（Seybold et. al.: Nature, 184, p. 1714, 1959）、

種々の魚介類の皮(Matsuno et. al.: Carotenoids Chemistry and Biology, Plenum Press, p. 59, 1989)、卵(Miki et. al.: Comp. Biochem. Physiol., 71B, p. 7, 1982)、ナンキョクオキアミ(Yamaguchi et. al.: Bull. Japan. Soc. Sci. Fish, 49, p. 1411, 1983)、緑藻ヘマトコッカス(Renstroem et. 5 al.: Phytochem. 20, p. 2561, 1981)、赤色酵母ファフィア(Andrewes et. al.: Phytochem., 15, p. 1003, 1976)、海洋性細菌 *Agrobacterium aurantiacum*(Yokoyama et. al.: Biosci. Biotech. Biochem., 58, p. 1842, 1994) などより発見されている。また、アスタキサンチンの化学構造は決定され(Andrewes et. al.: Acta Chem. Scand., B28, p. 730, 1974)、 10 また有機合成法も確立している(Widmer et. al.: Helv. Chem. Acta., 64, p. 2405, 1981, Mayer et. al.: Helv. Chem. Acta., 64, p. 2419, 1981) ところから、化学合成品としても入手は容易である。

本発明における有効成分は、化学的に合成されたアスタキサンチンでも、またアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有する赤色酵母、 15 ティグリオパス(赤ミジンコ)、オキアミ等の甲殻類の殻、緑藻類、微細藻類よりの抽出物(溶媒抽出エキスの状態であっても、また必要により適宜精製したものであってもよい)であってもよい。またアスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有する甲殻類やヘマトコッカス属の緑藻類を粉碎処理した粉体であっても使用することができる。

20 例えば、アスタキサンチンおよび／又はそのエステルの製法は、甲殻類を利用した製法(特開昭58-88353、特開平1-186860)、藻類を利用した製法(特開平1-187082号、特表平2-501189、特開平5-68585、特開平3-83577)、アスタキサンチン生産性酵母を利用した製法(特表平2-504101、特開平3-2 25 06880、特開平4-228064)、オキアミを利用した製法(特開昭60-4558、特開昭61-281159、山下栄次: 食品と開発, vol. 27, p38 (1992)) などが挙げられる。また、アスタキサンチンの新規な合成(特開平4-225933)も開示されている。これら以外の方法であっても本発明の有効成分の特性を有効に利用できるものであれ

ば単独又は組み合わせて適宜使用することができる。

本発明で用いるアスタキサンチンのエステルは、食用あるいは医薬用として許容される任意の脂肪酸とアスタキサンチンのエステルである。脂肪酸としてはパルミチン酸、ステアリン酸等の飽和脂肪酸、あるいは

5 オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸、ビスホモ- γ -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等の不飽和脂肪酸が挙げられ、これらがアスタキサンチンに1つ結合したモノエステル及び2つ結合したジエステルのいずれも本発明に使用できる。

- 10 本発明の有効成分を食品又は医薬品として利用する場合、上記の粗抽出エキスあるいは精製品のいずれを使用することもできる。これらを使用する場合、アスタキサンチンおよびそのエステルの性状は油状であるところから、常法にしたがって有効成分を浮剤化あるいはシナジストとなるような化合物を加えて浮剤化することができる。

- 15 本発明の飲食物および医薬品の有効成分であるアスタキサンチンおよび／又はそのエステルは、飲食物又は医薬品が体内に取り込まれたときアスタキサンチンおよび／又はそのエステルが日内リズム正常化作用を有するための有効量、例えば、一日あたり0.5-500mg、好ましくは5-50mg含まれているが、その上限には特別な制限は存在しない。

- 20 一方、本発明におけるメラトニンは、合成品でも、メラトニンを含有する動物あるいは植物から抽出されたものでも良く、また精製品でも粗抽出物であっても良い。いずれも何ら限定されることなく使用することができる。

- アスタキサンチンおよび／又はそのエステルは、種々の比率でメラトニンに添加あるいは併用して摂取することができるが、本発明の効果を発揮するためには、メラトニンに対してそれぞれ3倍、6倍（重量比）以上であることが望ましい。
- 25

本発明の飲食物及び医薬品の組成及び製剤には、本発明における有効成分であるアスタキサンチン及び／又はそのエステルは化学的に合成され

たものでも天然物由来のものでもよく、これらを単独であるいは適宜組み合わせ使用可能である。アスタキサンチンあるいは粗抽出エキスはエタノールに溶解し、そのまま水で希釈して使用することも可能である。

- また、必要に応じて乳液状製剤を調製することができる。乳液状製剤の
- 5 調製にあたっては、水相部に没食子酸、L-アスコルビン酸（あるいはそのエステルまたは塩）、ガム質（例えばローカストビーンガム、アラビアガムまたはゼラチン等）、さらにビタミンP（例えばヘスペリジン、ルチン、ケルセチン、カテキン、チアニジン等のフラボノイド類またはポリフェノール類あるいはその混合物）等を添加することが出来る。また油
- 10 相部にはアスタキサンチンあるいはそのエステル、粗抽出エキス、またはその混合物を添加し、さらにグリセロール、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、デキストリンまたは油脂、例えばナタネ油、大豆油、コーン油等通常の液状油を加えて乳化することによって容易に調製できる。乳化に際しては、拘束攪拌
- 15 機、ホモジナイザー等を用いて混合乳化が可能である。

- また、本発明の医薬として、錠剤及び粉末のような固形投薬形態、あるいはエリキシロール、シロップ及び懸濁液のような液体投薬形態で経口投与される。また非経口投与的に、例えば注射剤、座薬としても使用可能である。経口投与薬として使用する場合は補助剤としては、例えば
- 20 固形粉末上の担体、ラクトース、サッカロースなどの糖、グリシンなどのアミノ酸、セルロース等が挙げられる。また潤滑剤として二酸化珪素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール等、結合剤としてデンプン、ゼラチン、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン等が例示できる。崩壊剤としてはデンプン、寒天等がある。

- 25 本発明の組成物は、日内リズムを正常化する作用を有する。したがって、日内リズム睡眠障害の予防又は改善の目的で利用できる。また、睡眠だけでなく、日内リズムをもつホルモン分泌、神経活動、酵素活性や代謝、体温、腎機能などのリズムの正常化を目的としてし、利用することができ、これに起因する種々の疾患などの医学的症状等を予防または

改善することができる。なお本発明における症状の改善とは疾患の治療をも含む。

また本発明のアスタキサンチンは、メラトニンの日内リズム正常化作用を増強する効果を有する。驚くべきことにこの作用は同用量の抗酸化剤である α -トコフェロールでは認められなかった。よって、メラトニンの日内リズム正常化作用を増強するようなアスタキサンチンの作用効果はアスタキサンチンが抗酸化剤であるというだけでは説明ができない。

本発明の医薬中に含まれるアスタキサンチンまたはそのエステル（有効成分）の量は、成人に対して1日あたり、普通0.5-500mg、好ましくは5-50mgの服用量で経口投与を行うか、あるいは非経口投与を行うことができる量である。投与量は、投与される疾患の種類、患者の年齢、体重、症状の程度、投与形態によって異なることは明らかである。本発明の有効成分は日内リズム正常化作用を有するため、日内リズムの乱れによって生じる睡眠障害および心・血管系障害等種々の疾患を予防または改善し得る。

また本発明の飲食物の形態としては、マーガリン、バター、バターソース、チーズ（ナチュラル、プロセス）、生クリーム、ショートニング、ロード、アイスクリーム、ヨーグルト、コーヒー用ミルク、乳製品、ソース、スープ、肉製品、魚製品、ポップコーン、フライドポテト、ポテトチップ、ふりかけ、だて巻き、和菓子類（せいべい等）、洋菓子類（プリン、ゼリー、グミキャンディー、キャンディー、ドロップ、キャラメル、チョコレート、チューインガム、ペストリー等）、焼き菓子類（カステラ、ケーキ、ドーナッツ、ビスケット、クッキー、クラッカー等）、マカロニ、パスタ、サラダ油、インスタントスープ、ドレッシング、卵、マヨネーズ、みそ、炭酸系飲料、非炭酸系飲料（果汁飲料、ネクター飲料等）、清涼飲料、スポーツ飲料、茶、コーヒー、ココアなどの非アルコール飲料、リキュール、薬用酒等のアルコール飲料等の一般食品の形態を挙げることができる。

- 本発明の飲食物は、アスタキサンチン及び／又はそのエステル、もしくはこれらを含有する天然物から得られたものを、一般食品の原料とともに配合し、通常の方法により加工製造することができる。その配合濃度は剤形、食品の形態性状により異なるが、一般には0.001-10%が好ましいが特に限定されるものではない。ただし最終製品の1日摂取量あたり、本発明の有効成分が、アスタキサンチンとして日内リズム正常化作用を発揮するのに必要な量だけ含まれるように調製する。現在知られている限り成人1日摂取量あたり0.5-500mg、好ましくは5-50mgが好ましいが、そのような量は、当業者が適宜選択できる。
- 10 本発明の飲食物を栄養補助食品あるいは機能性食品として用いる場合、その形態は、上記医薬製剤と同様の形態でもよいが、例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等が配合された自然流動食、半消化態栄養食および成分栄養食や、ドリンク剤、カプセル剤、経腸栄養剤等の加工形態であってもよい。スポーツドリンクあるいは栄養ドリンクとして提供する場合は、栄養バランスを整え、かつ摂取時の風味を一層よくするため、易消化性の含水炭素、
- 15 アミノ酸、ビタミン類、ミネラル類等の栄養的添加物や甘味料、香辛料、香料、色素等を配合することもできる。

本発明の栄養補助食品あるいは機能性食品の形態は、これらに限定されるものではなく、上記の一般食品の形態であってもよいが、できれば単位服用形態にあることが望ましい。

- 25 以下、実施例及び参考例を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例1. アスタキサンチンの日内リズム正常化作用

アスタキサンチンが日内運動に及ぼす影響をラットを用いて調べた。ラットは明期に主に休息（睡眠）し、暗期に活動する習性を持つ。ラット

の日内リズムは1日の運動量を連続的に測定し、明期と暗期の運動量の経時変化測定することで調べた。

- 4 週齢の Wistar 系雄性ラット（日本チャールスリバー社より購入）を一週間予備飼育後、5 週齢で実験に供した。ラットを無作為に2群（5-6匹/群）に分け、一方をコントロール食群（低トコフェロール食）、もう一方をアスタキサンチン食群とし4週間摂取させた。動物は室温 23.5±1℃、湿度 55±5%に保った動物舎内で飼育し、飼料および水は自由摂取とした。

ラット日内運動量の計測方法

10 飼料組成

飼料組成については表1のように調製した。アスタキサンチンはオキアミから抽出精製されたアスタキサンチン（アスタキサンチンをフリー体換算で15%含有するオイル、イタノ冷凍（株）製造）を用いた。

ラット日内運動量の計測

- 15 ラットを赤外線センサーを設置したボックス内で個別に飼育し、その運動量を赤外線センサーによりカウントした。つまり、動物がその赤外線センサーを一回越える毎に1カウントとして数え、その数を積算して運動量（カウント）として表わした。統計処理は、ANOVA および student t-test を用いて行った。
- 20 実験食で飼育開始後1週間は12時間暗期-12時間明期の同調期間とし、その後2週目から3週間にわたり、日内運動量を連続的に計測した。1日毎に総運動量ならびに総運動量に対する明期の運動比率（明期運動量／総運動量×100（%））を算出した。アスタキサンチンはコントロールと比べて総運動量に影響を及ぼさなかった（図1）が、明期の運動比率を低下させた（図2）。このことから、アスタキサンチンの摂取により明期のラットの活動が低下し、アスタキサンチンに日内リズムを安定化させる作用があることが確認できた。明期の運動比率（%）の平均値を比べると（図3）、アスタキサンチン食群には明期の運動比率の有意な低下が見られ、アスタキサンチンが日内リズムの正常化作用を有することが明
- 25

らかである。

実施例 2. アスタキサンチンによるメラトニンの日内リズム正常化増強効果

- 5 4 週齢の Wistar 系雄性ラット（日本チャールスリバー社より購入）を一週間間予備飼育後、5 週齢で実験に供した。ラットを無作為に 2 群（10 - 11 匹／群）にわけ、それぞれコントロール食（低トコフェロール食）とアスタキサンチン食（表 1）を与えた。各群は更にそれぞれ 2 群（5 - 6 匹／群）に分け、それぞれ蒸留水およびメラトニン水を 4 週間摂取させた。
- 10 動物は室温 $23.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に保たれた動物舎内で飼育し、飼料および水は自由摂取とした。メラトニンは $0.5\text{mg}/100\text{ml}$ の濃度で水に溶解して飲料水として自由に摂取させた。ラットの飲水量から換算されるメラトニンの摂取量は約 $1\text{mg}/\text{日}$ となる。

- 実験食による飼育開始後、1 週間の同調期間ののち 3 週間にわたりラットの運動量を実施例 1 のように計測し、日内リズムの変化を調べた。各群の総運動量の平均値に差は見られなかった（図 4）。総運動量に対する明期の活動比率（明期運動量／総運動量 $\times 100$ （%））を比べると、コントロール群に比べアスタキサンチン群およびメラトニン群はそれぞれ単独でも明期の活動率を低下させる傾向がみられた。アスタキサンチンとメラトニンとを同時に与えると日内リズム正常化作用がさらに増強された（図 5）。

実施例 3. α -トコフェロールのメラトニンの日内リズム正常化増強効果との比較

- アスタキサンチンと同じ脂溶性の抗酸化剤である α -トコフェロールがメラトニンの日内リズム正常化作用に及ぼす影響をアスタキサンチンのそれと比較した。

4 週齢の Wistar 系雄性ラット（日本チャールスリバー社より購入）を一週間間予備飼育後、5 週齢で実験に供した。ラットを無作為に 2 群（10 - 11 匹／群）にわけ、各群に 0.001% および 0.005% トコフェロール食を

摂取させた。おのおのをさらに2群(5-6匹/群)にわけ、1群は蒸留水を、もう1群にはメラトニン水を4週間与えた。動物は室温 $23.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に保った動物舎内で飼育し、飼料および水は自由摂取とした。

実験食で飼育を開始後、1週間の同調期間ののち3週間にわたりラットの運動量を実施例1のように計測し、日内リズムの変化を調べた。総運動量に対する明期の運動比率(明期運動量/総運動量 $\times 100(\%)$)の経日変化を図6、7および図8に示す。0.001%トコフェロール食群にはメラトニンの日内リズム正常化作用の増強効果はみられなかった(図6)。0.005%トコフェロール食摂取群でわずかなメラトニンの日内リズム正常化作用の増強効果が認められた(図7)。しかし、0.005%トコフェロール食群にみられるメラトニンの日内リズム正常化作用の増強効果は0.0045%アスタキサンチン食群に見られるメラトニンの日内リズム正常化作用の増強効果(図8)と比較して弱いものであった。この結果から、アスタキサンチンが α -トコフェロールより効果的なメラトニンの日内リズム正常化作用の増強効果を持つことが明らかとなった。

実施例4. アスタキサンチンの日内リズム正常化作用における用量

依存性

4週齢のWistar系雄性ラット(日本チャールスリバー社より購入)を一週間予備飼育後、5週齢で実験に供した。ラットを無作為に5群にわけ、それぞれコントロール食(トコフェロール欠乏食)とアスタキサンチン食(表2)を与えた。飼料および水は自由摂取とした。ラットの摂餌量から換算されるアスタキサンチンの摂取量は約2-20mg/日となる。

1週間の同調期間ののち3週間にわたりラットの運動量を実施例1のように計測し、日内リズムの変化を調べた。総運動量に対する明期の活動比率(明期運動量/総運動量 $\times 100(\%)$)は最少用量の0.15g/kg dietよりアスタキサンチンの濃度に依存して低下し、0.3g/kg diet以上で有意であった(図9)。一方、総運動量は最高用量の1.5g/kg dietで上昇する傾向が認められた(図10)。

本実施例では、基本となる飼料にトコフェロール欠乏食を用いている。

実施例 1 の低トコフェロール食を基本飼料として用いた場合と同様に、アスタキサンチンによる日内リズム正常化作用が確認されたことより、アスタキサンチンはトコフェロールが欠乏して日内リズムに変調を来たした場合にも、有効に作用することが確認できた。

5 〔製剤例 1〕 乳化状製剤

	油相部	(重量%)
	アスタキサンチン	0.1
	ナタネ油	39.9
	コハク酸グリセリド	2.0
10	水相部	(重量%)
	L-アスコルビン酸	2.0
	没食子酸	1.0
	ケルセチン	1.0
	ローカストビーンガム	0.1
15	水	53.9

ローカストビーンガムを溶解させた水を65℃に加熱してから没食子酸とL-アスコルビン酸とケルセチンを混合し、予め65℃で混合、溶解しておいた油相部を混合、攪拌後ホモジナイザーを通し、均質化し10℃まで冷却して上記配合の乳化状製剤を得た。この乳化状製剤は、1回あたり
20 約1-20ml飲用する。

〔製剤例 2〕 乳化状製剤

	油相部	(重量%)
	アスタキサンチン	0.1
	ナタネ油	38.9
25	クエン酸モノグリセリド	2.0
	水相部	(重量%)
	L-アスコルビン酸	2.0
	没食子酸	1.0
	ヘスペリジン	1.0

ローカストビーンガム	0.05
水	54.95

- ローカストビーンガムを溶解させた水を65℃に加熱してから没食子酸とL-アスコルビン酸とヘスペリジンを混合し、予め65℃で混合、溶解
- 5 しておいた油相部を混合、攪拌後ホモジナイザーを通し、均質化し10℃まで冷却して上記配合の乳化状製剤を得た。この乳化状製剤は、1回あたり約1-20ml飲用する。

〔製剤例3〕 錠剤

(重量%)

10 アスタキサンチン	5
乳糖	80
重質酸化マグネシウム	15

を均一に混合し、1粒180mgの錠剤とした。

〔製剤例4〕 散剤及び顆粒剤

(重量%)

15 アスタキサンチン	45
乳糖	40
デンプン	15

を均一に混合し、散剤又は顆粒剤とした。

20 〔製剤例5〕 カプセル剤

(重量%)

ゼラチン	70.0
グリセリン	22.9
パラオキシ安息香酸メチル	0.15
25 パラオキシ安息香酸プロピル	0.51
水	適量
計	100%

上記成分からなるソフトカプセル剤皮の中に、オキアミ抽出油脂（アスタキサンチンジエステル1.7%含有）を常法により充填し、1粒1

80 mgのソフトカプセルを得た。

〔製剤例 6〕 ドリンク剤

呈味：DL-酒石酸ナトリウム		1 g
コハク酸		0.09 g
5	甘味：液糖	8 Kg
酸味：クエン酸		120 g
ビタミン：ビタミンC		100 g
ビタミンE		300 g
アスタキサンチンエチルエステル		10 g
10	シクロデキストリン	50 g
香料		150 ml
塩化カリウム		10 g
硫酸マグネシウム		5 g

- 上記の成分を配合し、水を加えて100リットルとした。このドリンク剤は、1回あたり約100mlを飲用する。

〔製剤例 7〕 メラトニン配合錠剤

(重量%)

アスタキサンチン		6
メラトニン		2
20	ビタミンB6	10
カルシウム		30
重質酸化マグネシウム		51

上記を均一に混合し、1粒100mgの錠剤とした。

〔製剤例 8〕 メラトニン配合カプセル剤

		(重量%)
25	ゼラチン	70.0
グリセリン		22.9
バラオキシ安息香酸メチル		0.15
バラオキシ安息香酸プロピル		0.51

水

適量

計

100%

- 上記成分からなるソフトカプセル剤皮の中に、オキアミ抽出油脂（アスタキサンチン、フリー体換算で5%）とメラトニンを常法により充填し、1粒180mgのソフトカプセルを得た。

〔産業上の利用分野〕

- 本発明の飲食物および医薬品に含まれるアスタキサンチンおよび／又はそのエステルは、実施例で述べたように日内リズム正常化作用を有する。また、内因性メラトニンあるいはアスタキサンチンと同時に摂取した外因性メラトニンの保護作用により、メラトニンの効果を増強させ、日内リズムを正常化する作用を持つ。従来の技術では、このような作用を持つ物質は知られていない。

表 1 実験飼料の組成

成分	量 (g/kg)	
	コントロール食	アスタキサンチン食
カゼイン(α -トコフェロールフリー)	200	200
DL-メチオニン	3	3
コーンスターチ	150	150
シェークロース	500	500
セルロースパウダー	50	50
ラード(α -トコフェロールフリー)	50	50
ミネラル類(AIN-76)	35	35
ビタミン類(AIN-76, α -トコフェロールフリー)	10	10
重酒石酸コリン	2	2
α -トコフェロール	0.01	0.01
アスタキサンチン*	-	0.3

*アスタキサンチンをフリー体換算で15%含むオイル

表2

表2 実験飼料の組成

成分	量(g/kg)					
	コントロール食		アスタキサンチン食			
			0.15	0.3	0.6	1.5
カゼイン(α -トコフェロールフリー)	200	200	200	200	200	200
DL-メチオニン	3	3	3	3	3	3
コーンスターチ	150	150	150	150	150	150
シェークロース	500	500	500	500	500	500
セルロースパウダー	50	50	50	50	50	50
ラード(α -トコフェロールフリー)	50	50	50	50	50	50
ミネラル類(AIN-76)	35	35	35	35	35	35
ビタミン類(AIN-76, α -トコフェロールフリー)	10	10	10	10	10	10
重酒石酸コリン	2	2	2	2	2	2
アスタキサンチン*	-	0.15	0.3	0.6	1.5	

*アスタキサンチンをフリー体換算で15%含むオイル

請 求 の 範 囲

1. アスタキサンチンおよび／又はそのエステルを有効成分として含有する日内リズム正常化作用を有する飲食物および医薬品組成物。
- 5 2. アスタキサンチンおよび／又はそのエステルを有効成分として含有する日内リズムの乱れに起因する睡眠障害および種々の疾患の予防および改善のための飲食物および医薬品組成物。
3. アスタキサンチンおよび／又はそのエステルの内因性メラトニンの保護によるメラトニンの睡眠作用および／又は日内リズム正常化作用と、日内リズムの乱れに起因する睡眠障害および種々の疾患の予防および改善作用をもたらすアスタキサンチンおよび／又はそのエステルを含有する飲食物および医薬品組成物。
- 10 4. アスタキサンチンおよび／又はそのエステルとメラトニンとを併用して摂取することによるメラトニンの睡眠作用および／又は日内リズム正常化作用と、日内リズムの乱れに起因する睡眠障害および種々の疾患の予防および改善を目的とするアスタキサンチンおよび／又はそのエステルとメラトニンとの組成物。
- 15 5. アスタキサンチンおよび／又はそのエステルによる生体内メラトニンの分解を抑制するためのアスタキサンチンおよび／又はそのエステルを含有する組成物。
- 20

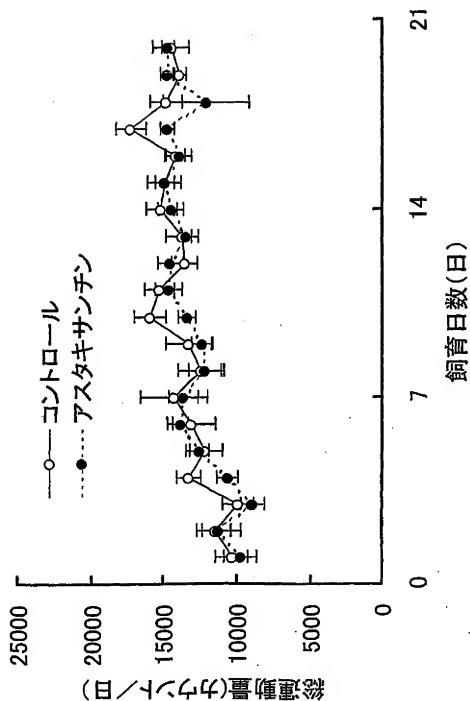


図1

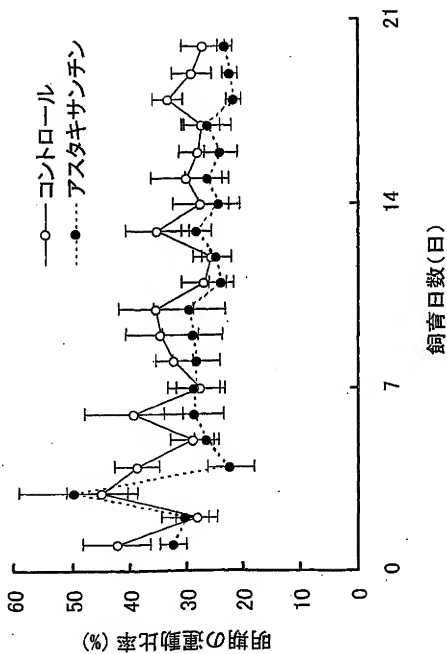


図 2

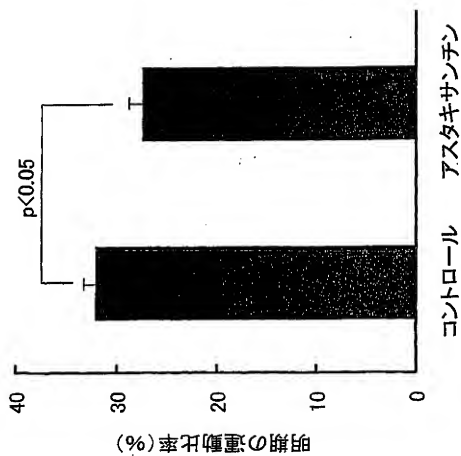
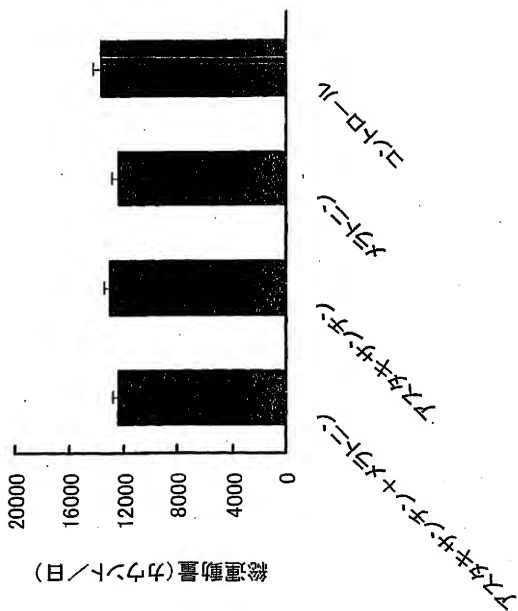


図 3

図 4



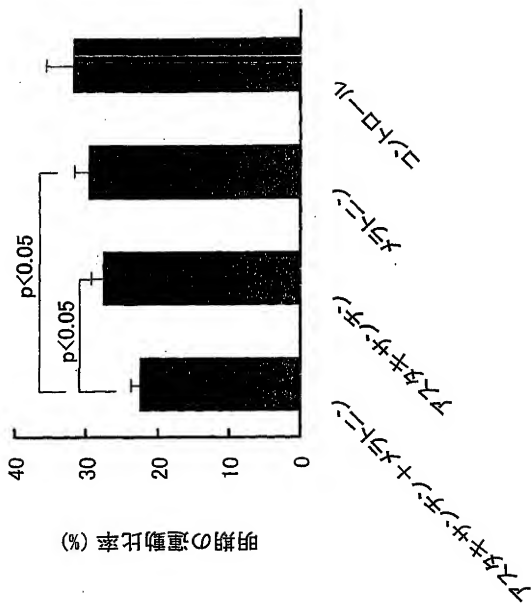
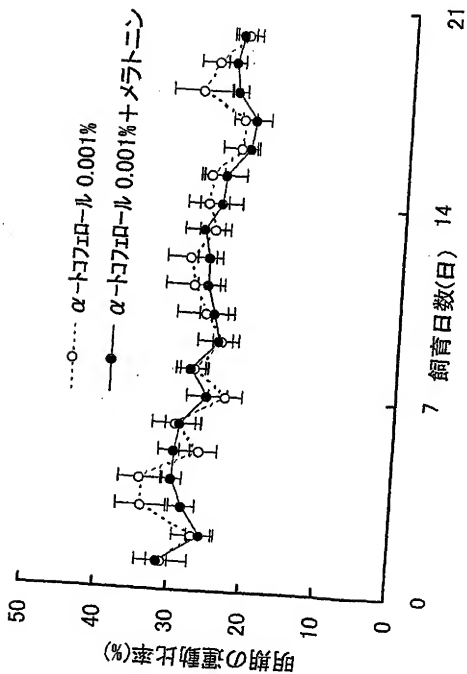


図 5

図 6



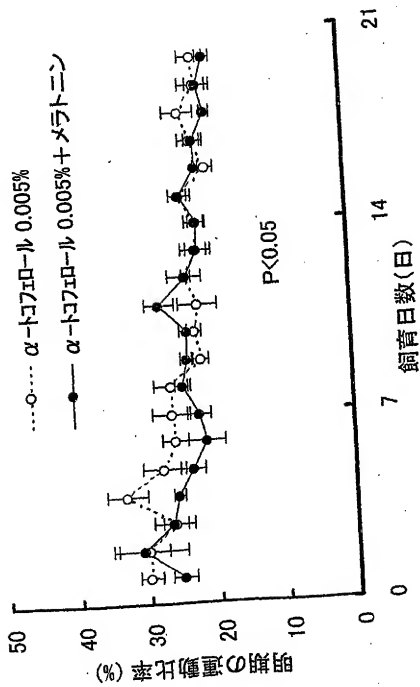


図7

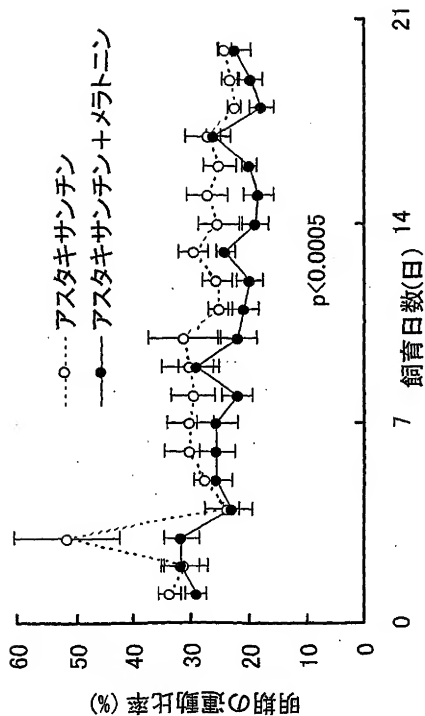


図 8

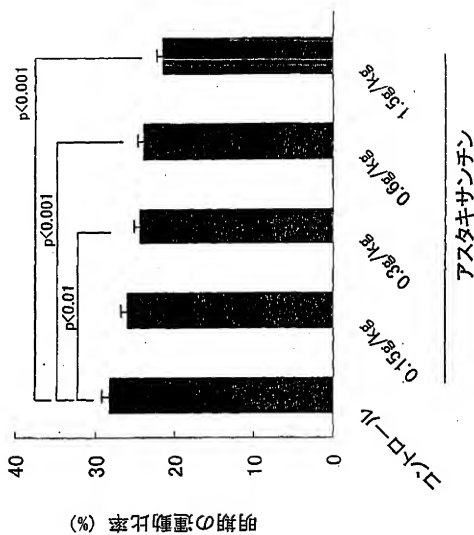


図9

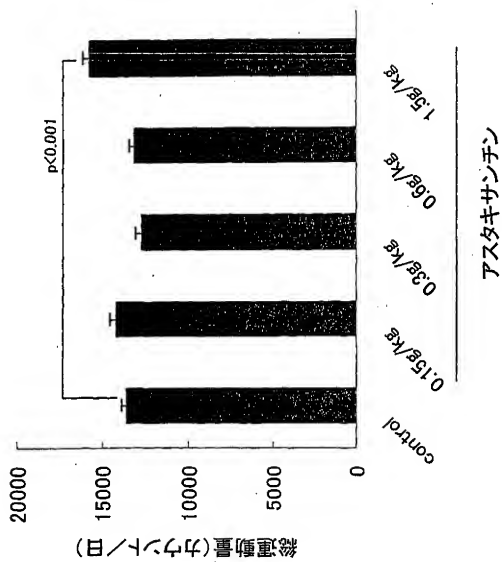


図10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04027

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K31/122, A61P25/20, 25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K31/122, A61P25/20, 25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 2-49091, A (Suntory Limited),	1, 3
Y	19 February, 1990 (19.02.90) (Family: none)	2, 4, 5
X	JP, 10-155459, A (Suntory Limited),	1, 3
Y	16 June, 1998 (16.06.98) (Family: none)	2, 4, 5
X	JP, 5-124958, A (Yukio DATE),	1, 3
Y	21 May, 1993 (21.05.93) (Family: none)	2, 4, 5
X	EP, 770385, A (Suntory Limited),	1, 3
	02 May, 1997 (02.05.97),	
	& JP, 9-124470, A & AU, 9670404, A	
	& KR, 97020098	
X	JP, 7-300421, A (Itano Reitou K.K.),	1, 3
	14 November, 1995 (14.11.95) (Family: none)	
Y	Osamu HAYAISHI, "Properties and Function of Indoleamine 2,3-Dioxygenase", J. Biochem., Vol.79, (1976), pages 13 to 21, (especially, page 20, right column, 6 th line from the bottom to page 21, left column, line 18)	2, 4, 5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 June, 2001 (29.06.01)Date of mailing of the international search report
10 July, 2001 (10.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. A61K31/122, A61P25/20, 25/00

B. 調査を行った分野
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. A61K31/122, A61P25/20, 25/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	J P 2-49091 A (サントリー株式会社) 19. 2月. 1990 (19. 02. 90) (ファミリーなし)	1, 3 2, 4, 5
X Y	J P 10-155459 A (サントリー株式会社) 16. 6月. 1998 (16. 06. 98) (ファミリーなし)	1, 3 2, 4, 5
X Y	J P 5-124958 A (伊達幸夫) 21. 5月. 1993 (21. 05. 93) (ファミリーなし)	1, 3 2, 4, 5
X	EP 770385 A (SUNTORY LIMITED)	1, 3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリ

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29. 06. 01

国際調査報告の発送日

10.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8916

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

今村玲英子

4C

8517

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	02. 5月. 1997 (02. 05. 97) & JP 9-124470 A & AU 9670404 A & KR 97020098	
X	JP 7-300421 A (イタノ冷凍株式会社) 14. 11月. 1995 (14. 11. 95) (ファミリーなし)	1, 3
Y	Osamu HAYAISHI "Properties and Function of Indoleamine 2,3-Dioxygenase," J. Biochem., Vol.79 (1976) 13p-21p (特に、20p右欄下から6行~21p左欄18行)	2, 4, 5